

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平4-29915

⑤ Int. Cl.⁵

A 61 K 7/00

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成4年(1992)1月31日

9/127

47/24

C 07 F 9/10

E
T
C
D
K
J
H
T
F
E

9051-4C
9051-4C
9051-4C
9051-4C
9051-4C
9051-4C
9051-4C
7624-4C
7624-4C
7624-4C
7731-4H

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全10頁)

⑭ 発明の名称 光破砕性リボソーム含有皮膚化粧料

⑯ 特 願 平2-136530

⑰ 出 願 平2(1990)5月24日

⑱ 発 明 者 橋 本 晃 大阪府茨木市奈良町4-4
⑱ 発 明 者 楠 見 明 弘 東京都渋谷区上原2-29-5
⑱ 発 明 者 山 口 和 夫 東京都三鷹市中原1-9-1
⑲ 出 願 人 サンスター株式会社 大阪府高槻市朝日町3番1号
⑲ 代 理 人 弁理士 青 山 蓑 外1名

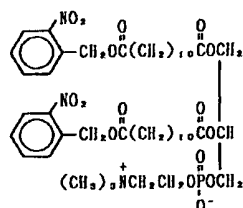
明 細 書

1. 発明の名称

光破砕性リボソーム含有皮膚化粧料

2. 特許請求の範囲

(1) 式:



で示される光分解性リン脂質を成分とする光破砕性リボソームを配合したことを特徴とする皮膚化粧料。

(2) 該ポリマーが波長240~360nmの光を1mW・min/cm²以上で照射することにより破砕され、内容物が放出する請求項第(1)記載の皮膚化粧料。

(3) 該リボソームの内容物がビタミンC、ビタミンB群、アミノ酸、糖類、植物エキス、ウロ

カニン酸、オロチン酸、グルコサミン、シクロデキストリン、ピロリドンカルボン酸、アルブチン、コウジ酸、アズレン、グリセリン、グリチルレチン酸、グルタチオン、ε-アミノカプロン酸、アラントイン、アルギン酸、ルチン、シコニン、ピオチン、タンニン酸、尿素およびバントテニールアルコールよりなる群から選択される水溶性物質である請求項第(2)記載の皮膚化粧料。

(4) 該リボソームの内容物がコラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸、核酸、コンドロイチン硫酸、キチンおよびキトサンよりなる群から選択される高分子物質である請求項第(2)記載の皮膚化粧料。

(5) 該リボソームの内容物が酵素、ペプチドホルモン、細胞増殖因子、プラセンタエキス、ATP、サイクリックAMP、インターフェロン、ビタミンA類、トコフェロール、カロチン、セラミド、スフィンゴ脂質、ローヤルゼリー、菌代謝物、感光素、プロスタグランジンおよびビタミンDよりなる群から選択される生理活性物質であ

る請求項第(2)記載の皮膚化粧料。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は光破砕性リボソーム含有皮膚化粧料、さらに詳しくは、従来皮膚への吸収性が低いあるいは困難とされていた種々の有効物質を効率良く皮膚に吸収させることができる光破砕性リボソーム含有化粧料に関する。

従来の技術および課題

従来、ホルモン類、ビタミン類、感光素、植物・動物抽出成分、紫外線吸収剤など、種々の有効物質を化粧料に配合することが行われてきた。これらは、皮膚の恒常性を維持する目的で配合されるものであり、ある程度は皮膚に吸収されることが必要である。

しかしながら、有効物質でありながら、皮膚への吸収性が低いあるいは困難なものや、そのままでは吸収されずメンドウな誘導体化を行わないと吸収されないものがある。このような物質の例としては、例えば、水溶性ビタミンやアミノ酸のよ

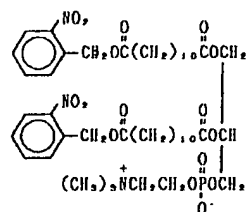
うな水溶性物質、あるいはコラーゲンやヒアルロン酸のような高分子物質がある。

従って、かかる有効物質を効率良く皮膚に吸収させる方法の出現が望まれていた。

課題を解決するための手段

本発明者らは、前記事情に鑑みて研究を重ねるうちに、光照射により分解する特定のリン脂質を構成成分とするリボソームを用いることによって、意外にも、前記課題を解決できることを見出し、本発明を完成するに至った。

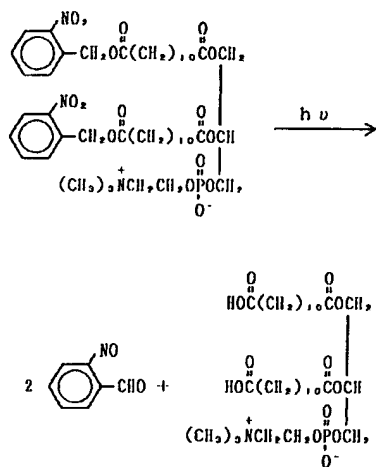
すなわち、本発明は、式：



で示される光分解性リン脂質を成分とする光破砕性リボソームを配合したことを特徴とする皮膚化粧料を提供するものである。

- 3 -

本発明の皮膚化粧料では、前記した式で表わされる光分解性リン脂質を用いる。この光分解性リン脂質は構造的にはレシチン同族体に属し（PLPC=Photo-labile Phosphatidylcholine、以下、適宜PLPCと略す）、アルキル鎖の末端に光感応基を有する。かかる光感応基の存在により、特定の波長の光を照射すると、エステル結合が切断されて、末端にカルボキシル基を生じる。その反応を以下に示す。



本発明では、かかる光分解性リン脂質を構成成分の1つとしてリボソームを形成する。光分解性リン脂質は、構造的に、形成されたリボソームの最も高疎水性の部分に位置する。この配置において、光を照射すると、該高疎水性部分に高親水性のカルボキシル基が生成して熱力学的に極めて不安定な状態が出現し、リボソームは瞬時に破砕す

- 6 -

- 5 -

第 1 表

リボソームの光分解性

波長 (nm)	20%分解に 要する時間(分)
240	14
260	9
280	16
300	26
320	56
340	82
360	110

次に、リボソームに封入できる内容物の例としては、

①ビタミンC、ビタミンB群、アミノ酸、糖類、植物エキス、ウロカニン酸、オロチン酸、グルコサミン、シクロデキストリン、ピロリドンカルボン酸、アルブチン、コウジ酸、アズレン、グリセリン、グリチルレチン酸、グルタチオン、ε-アミノカプロン酸、アラントイン、アルギン酸、ルチン、シコニン、ビオチン、タンニン酸、尿素お

る。

この光照射による破砕の状況を、リボソームの構造を模式的に示す代用図面第1図Aおよび第1図Bに示す。第1図Aは、位相差顕微鏡写真により直径50μm程度の巨大なリボソームの光照射前の構造を示す。第1図Bは、近紫外線を5秒間照射した後の同リボソームの構造を示す。

本発明においては、このようにして破砕するリボソーム内に皮膚の恒常性維持に有効な種々の成分を封入することができる。親油性を有するリボソームは皮膚の内部まで到達できるので、その後光を照射すれば、リボソームが破砕して内容物が皮膚の内部で放出される訳である。照射する光としては、今回、波長が240～360nmの範囲の光を1mW・min(分)/cm²以上で行うと破砕、放出が良好に行われることが判明した。

以下の第1表に、1mW/cm²で光照射した場合に、PLPCを20%分解するのに要する時間のデータ例を示す。

-7-

およびバントニールアルコールなどの水溶性物質；

②コラーゲン、ヒアルロン酸、DNA、RNA、コンドロイチン硫酸、キチンおよびキトサンなどの高分子物質；

③酵素、ペプチドホルモン、細胞増殖因子、ブラセンタエキス、ATP、サイクリックヌクレオチド、インターフェロン、ビタミンA類、トコフェロール、カロチン、セラミド、スフィンゴ脂質、ローヤルゼリー、菌代謝物、感光素、プロスタグランディンおよびビタミンDなどの生理活性物質；

が挙げられる。

本発明の皮膚化粧料は、このような有効物質を封入したリボソームを通常成分の皮膚化粧料に配合したものである。

かかる本発明の皮膚化粧料は以下のごとくに製造される。

まず、光分解性リン脂質は、酸クロリド等を用いる常法によって合成する。

合成例を述べれば、まず、1, 10-デカンジ

カルボン酸と塩化チオニルを公知の方法によって反応させて1, 10-デカンカルボン酸二塩化物とする。トリエチルアミンの存在下、該二塩化物と当量の2-ニトロベンジルアルコールとを反応させ、残存する塩化物を加水分解して1, 10-デカンジカルボン酸のモノ-2-ニトロベンジルエステルとする。次いで、ホスファチジルコリン誘導体の合成法に従い、4-ジメチルアミノピリジンの存在下、該モノエステルおよびsn-グリセロール-3-ホスホコリンを縮合剤1, 3-ジシクロヘキシルカルボジイミドにより縮合させて所望の光分解性リン脂質を得る。

次に、光分解性リン脂質を構成成分とするリボソームを作成する。他の構成成分としてはレシチン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、スフィンゴミエリン、ホスファチジルグリセロールおよびコレステロールなどが挙げられる。勿論、光分解性リン脂質を単独で成分とすることもできるが、他の構成成分を用いる場合は、光分解性リン脂質は、通常、1～5

-9-

-10-

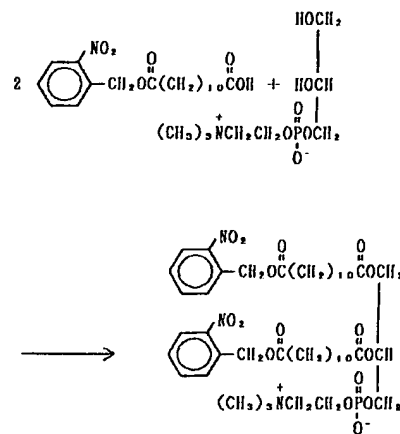
具体的には、例えば、光分解性リン脂質およびレシチンの等量を、クロロホルム：メタノール（7：3）に溶解し、窒素気流中で溶媒を蒸発乾固し、容器の壁面に薄膜として付着させる。これを真空中でさらに16時間乾燥する。Vortex法、超音波照射法の場合には、さらに50℃（回転移送温度以上）に加温し、やはり50℃に加温した2.5 mlの緩衝液（10 mM PIPES + 100 mM NaCl）を入れる。10分間50℃に保持した後、大きいリボソームを得たい場合は、さらに30分間50℃に静置する。やや小さめの多重層リボソームを得たい場合には、この試料をVortexミキサーで激しく振盪する。超音波照射法によって単層の小さなリボソームを作製する場合には、Vortexした試料を60秒間超音波処理する。

- 11 -

なお、従来のリボソームでは高分子物質を内容物としても、それを放出することができなかった

实施例

調製例 1

$$\text{C}_6\text{H}_4(\text{NO}_2)\text{CH}_2\text{OH} + \text{Cl}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}(\text{CH}_2)_6\overset{\text{O}}{\parallel}\text{CCl} \longrightarrow \text{C}_6\text{H}_4(\text{NO}_2)\text{CH}_2\text{OC}(\text{CH}_2)_6\text{COH}$$


- 14 -

の乾燥テトラヒドロフラン (THF) 溶液 100 ml を 0℃ に冷却しながら攪拌し、そこに 2-ニトロベンジルアルコール 5.1 g (33 ミリモル) およびトリエチルアミン 4.6 ml (33 ミリモル) の乾燥 THF 溶液 70 ml をゆっくりと滴下する。滴下完了後、反応物を室温にて 11 時間攪拌する。次いで、トリエチルアミン 5 ml、水 15 ml、THF 20 ml の混合液を滴下する。大部分の THF をエバポレーターで留去した後、残渣に水を添加し、遊離する油脂をエーテルで抽出する。エーテル層を硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下で濃縮する。残存する油状物にヘキサンおよび酢酸エチルの混合液 (4/1) を添加し、白色沈殿を得る。この沈殿を濾別し、濾液を濃縮する。得られた油状の混合物をシリカゲルカラム (溶出液: ヘキサン-酢酸エチル (4/1→2/1)) で繰り返し精製して、1, 10-デカンジカルボン酸のモノ-2-ニトロベンジルエステル 1.8 g (15%) を得る。

該モノエステル 1.46 g (4.0 ミリモル)、

s n-グリセロ-3-ホスホコリン塩化カドミウム錯体 458 mg (1.0 ミリモル)、1, 3-ジシクロヘキシルカルボジイミド 1.03 g (5.0 ミリモル) および 4-ジメチルアミノピリジン 244 mg (2.0 ミリモル) の混合物を (使用直前に五酸化リン共存下に蒸留した) 乾燥クロロホルム 10 ml 中、室温暗所にて 4 日間攪拌して反応させる。反応終了後、クロロホルム-メタノール-水 (4/5/1) で希釈し、陽イオン交換樹脂カラム (2.5 x 20) に結める。該希釈液を用いてカラムから溶出させる。溶出液を減圧下で濃縮し、得られた混合物をシリカゲルカラムで (クロロホルム-メタノール (2/1→1/1)、クロロホルム-メタノール-水 (65/25/4)) 分離精製し、PLPC 0.78 g (82%) を得る。

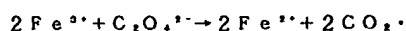
PLPC の量子収率

前記にて調製した PLPC の量子収率を以下のようにして調べた。

化学光量計としてトリオキサラ鉄 (Ⅲ) カリ

-15-

ウムを用いる。素反応は次に示すとおりで、生成する鉄 (Ⅱ) イオンをフェナントロン錯体として 510.0 nm で分光的に定量する。



厚さ 1 cm の 2 つの石英セルに 3 ml の試料 (0.083 mM PLPC エタノール溶液またはリポソーム緩衝液)、3 ml の 0.018 M トリオキサラ鉄 (Ⅲ) カリウム溶液をとる。500 W 超高圧水銀灯の紫外線を水フィルター、干渉フィルターを通した後、攪拌している試料、化学光量計溶液に、一定時間照射する。

厚さ 1 cm の 2 つの石英セルに、試料に用いる溶媒 (エタノールまたは水) 3 ml、0.018 M トリオキサラ鉄 (Ⅲ) カリウム溶液 3 ml をとり、同様、一定時間照射する。

前記 2 種の照射後の化学光量計溶液を各々 2 ml とり、1% フェナントロン溶液 1 ml、緩衝溶液 3 ml、水 4 ml を加え、全量を 10 ml とする。30 分間暗所で放置した後、510 nm における吸光度を測定する。後者の吸光度から光源の

強さ、両者の吸光度の差から、試料が吸収した光子数を求める。

次に、照射した試料に含まれる PLPC および 1 つの 2-ニトロベンジルエステルが開裂した分解物を定量する。試料がエタノールの場合には、そのまま溶液に窒素ガスを吹き込み濃縮した後、薄層クロマトグラフィー (TLC) により分離する。試料がリポソームを含む緩衝溶液の場合には、1 N HCl 0.060 ml で酸性にした後、クロロホルム 1 ml で 3 回抽出し、クロロホルム溶液を窒素ガスにより濃縮し、TLC で分離する。TLC の展開液はクロロホルム-メタノール-水 (65/25/4) である。紫外吸収を示す R_f = 0.22, 0.13 の部分 (各々、PLPC、1 つのエステルが開裂した分解物) を掻き取り、Bartlett の方法により各々リン定量を行った。

PLPC の光分解の量子収率は、エタノール中で 0.03、Vortex 法によって形成したリポソーム中では 0.025 であった。

なお、エタノール中における PLPC の吸収曲

-16-

-17-

線を添付第2図に示す。

調製例2

ビタミンC含有光敏性リボソームの調製

調製例1で調製したPLPC（光分解性レシチン）をクロロホルム溶液中10mg/mlに調製し、これを0.25ml試験管に採取し、窒素気流中でクロロホルムを蒸発させてPLPCを乾燥し、試験管の底に薄いフィルムを形成する。この試料を、真空中にて16時間乾燥する。次いで、50℃に加温し、やはり50℃に加温した2.5mM緩衝液（10mM PIPES + 10mM ビタミンC）を添加する。50℃に10分間保持した後、Vortexミキサーで激しく振盪する。次いで、60秒間超音波処理して一重層リボソームを得る。

得られたリボソームについて、光照射時間と内容物ビタミンCの放出量との関係を調べた。

まず、リボソームを、110mM NaCl、10mM PIPES、pH7.2で溶出するSephadex G-50カラム（1.6×20cm）でゲル濾過する。溶出したリボソームを収集し、溶

出液で希釈して260nmにおける吸光度を1に調整する。希釈したリボソーム溶液2.4mlを厚さ1cmのセルにとり、攪拌しながら、高圧水銀ランプ（HBO 100）からの紫外線を一定時間照射した後、放出されたビタミンCをHPLCで定量する。

なお、定量後にドデシル硫酸ナトリウム（SDS）0.012mlを添加して処理し、残存するビタミンCを全量放出させ、その量を同様に測定して100%放出の基準とした。

得られた照射時間-ビタミンC放出量の関係を添付図面の第3図に示す。

第3図より、ビタミンCの放出性は良好であることが分かる。

調製例3

DNA含有光敏性リボソームの調製

濃度10mg/mlのPLPCのクロロホルム溶液を0.3ml試験管に採取し、窒素気流中でクロロホルムを蒸発させてPLPCを乾燥し、試験管の底に薄いフィルムを形成する。これに、

-19-

10mg/ml DNA（5mM PIPES、pH7.2）を添加し、Vortexミキサーで激しく攪拌し、さらにクロロホルム0.6mlおよびジエチルエーテル0.2mlを添加し、さらにVortexミキサーで攪拌する。次いで、ロータリーエバポレーターで有機溶媒を除去し、さらに緩衝液（5mM PIPES、pH7.2）0.7mlを添加し、再度ロータリーエバポレーターに付す。この試料を70℃に1時間保持して直径約1μmのかなり均一なリボソームを得る。

このリボソームについて、光照射時間とDNAの放出量との関係を調べた。

まず、450×gで5分間遠心を3回行ってリボソームを洗浄し、緩衝液（5mM PIPES、pH7.2）2.5mlに懸濁する。該懸濁液0.25mlをセルにとり、高圧水銀ランプ（HBO 100）からの紫外線を一定時間照射した後、HPLCを用いてDNAを定量する。なお、定量後、10%トリトンX-100で処理して残存DNAを放出させ、これを100%放出とした。

-21-

-20-

得られた光照射時間とDNA放出量との関係を第4図に示す。

第4図より、DNAの放出性は良好であることが分かる。

実施例1 化粧水

調製例1のごとくに調製したビタミンC含有リボソームと、グリセリン、クエン酸およびクエン酸ナトリウムを精製水に溶解ないしは懸濁する。ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油（G.O.E.）、メチルパラベン、香料を別にエタノールに溶解し、前記精製水に可溶化し、濾過して化粧水形態の本発明の皮膚化粧料を得た。

各成分の配合量は以下の通りである。

成分	配合量（重量%）
光敏性リボソーム （ビタミンC含有）	0.5
グリセリン	6.0
エタノール	8.0
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	0.8
パラオキシ安息香酸メチル	0.05

-22-

クエン酸	0.05
クエン酸ナトリウム	0.07
香料	0.1
精製水	残部

実施例2 乳液

成 分	配合量(重量%)
(成分A)	
グリチルレチン酸ステアリル	0.1
流動パラフィン	5.0
ワセリン	2.0
ミツロウ	1.0
セスキオレイン酸ソルビタン	2.0
(成分B)	
ポリオキシエチレンオレイル	2.5
エーテル(20E.O.)	
パラオキシ安息香酸エチル	0.2
プロピレングリコール	5.0
カルボキシビニルポリマー	0.5
水酸化カリウム	0.5
光破壊性リボソーム	2.0

-23-

ラノリン	2.0
流動パラフィン	9.0
自己乳化型モノステアリン酸	3.0
グリセリル	
モノステアリン酸ポリオキシ	1.5
エチレンソルビタン(20E.O.)	
パラオキシ安息香酸プロピル	0.1
(成分B)	
光破壊性リボソーム	3.0
(コラーゲン含有)	
パラオキシ安息香酸メチル	0.2
プロピレングリコール	5.0
香料	0.2
精製水	残部

成分(A)を加熱溶解し、80℃に保持する。
別に、香料以外の成分(B)を加熱溶解して80℃に保ち、これに前記成分(A)を攪拌しながら添加し、十分混合する。さらに攪拌しつつ冷却し、香料を添加し、さらに冷却してクリーム形態の本発明の化粧料を得た。

-25-

(ヒアルロン酸含有)

香料	0.2
精製水	残部

前記成分(A)を80℃に加熱溶解し、別に香料以外の成分(B)を80℃に加温して溶解する。溶解成分(A)を溶解成分(B)に攪拌しながら添加し、十分混合する。次いで、攪拌しつつ冷却し、香料を添加し、さらに冷却して乳液形態の本発明の皮膚化粧料を得た。

なお、リボソームは調製例1、2のごとくに調製したものである。

実施例3 クリーム

成 分	配合量(重量%)
(成分A)	
ステアリン酸アスコルビル	1.0
酢酸d1- α -トコフェロール	0.2
サラシミツロウ	4.0
セタノール	2.0
ステアリン酸	1.0
ミリスチン酸イソプロピル	5.0

-24-

なお、リボソームは調製例1、2のごとくに調製したものである。

実施例4 バック

香料およびエタノールを均一に溶解する。これを酢酸ビニル-スチレン共重合体、ポリビニルアルコール、ソルビット、酸化チタンおよびカオリンの均一混和物に添加する。これに、さらに光破壊性リボソーム、パラオキシ安息香酸エチルを精製水に均一に溶解した溶液を添加し、均一に混和し、バック形態の本発明の皮膚化粧料を得た。

各成分の配合量は以下の通りである。

成 分	配合量(重量%)
光破壊性リボソーム	5.0
(水溶性プラセンタ含有)	
酢酸ビニル-スチレン共重合体	10.0
ポリビニルアルコール	10.0
ソルビット	5.0
酸化チタン	8.0
カオリン	7.0
エタノール	5.0

-26-

香料	2.0
パラオキシ安息香酸エチル	0.2
精製水	残部

発明の効果

本発明により、従来は皮膚への吸収性が低いあるいは困難とされていた有効物質を皮膚に効率良く吸収させることができる皮膚化粧料が提供される。

4. 図面の簡単な説明

第1図Aは光照射前のリボソームの構造を示す図面代用写真であり、

第1図Bは所定の光照射後のリボソームの構造を示す図面代用写真であり、

第2図は光分解性リン脂質の吸収曲線を示すグラフであり、

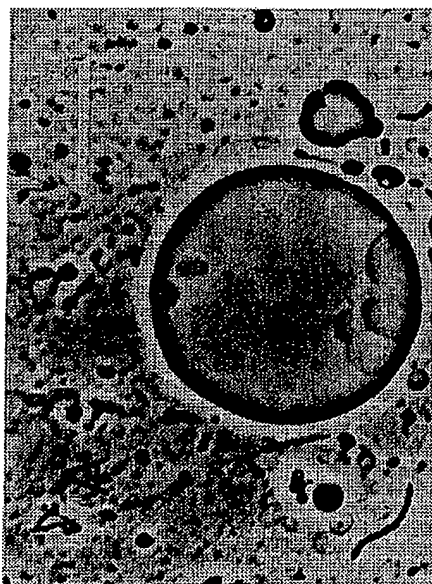
第3図は光照射時間とビタミンCの放出量の関係を示すグラフであり、

第4図は光照射時間とDNAの放出量の関係を示すグラフである。

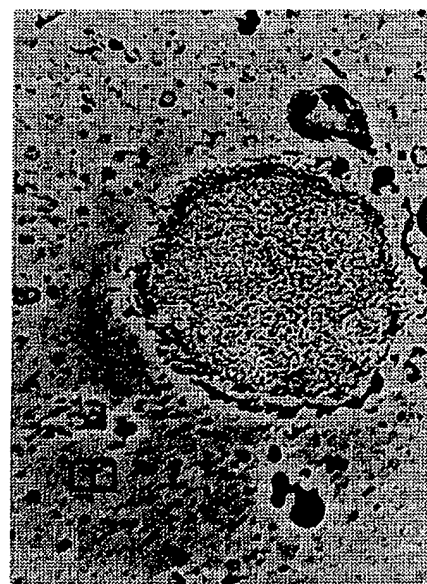
- 27 -

図面の浄書 (内容に変更なし)

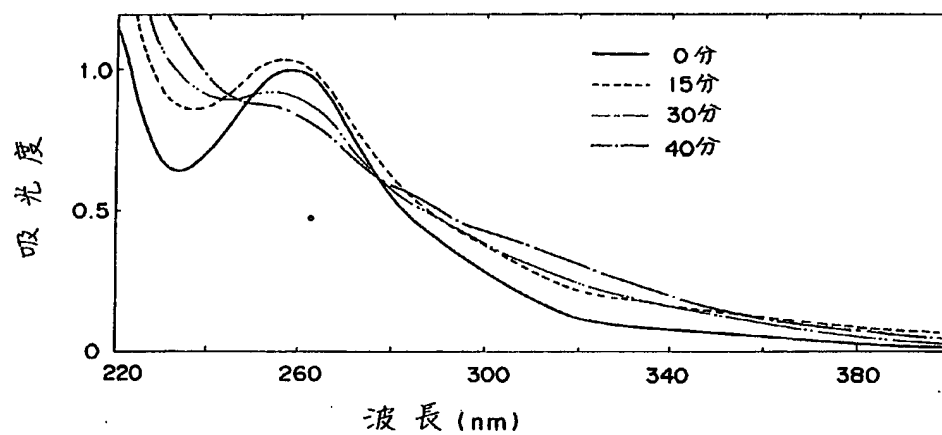
第1図A



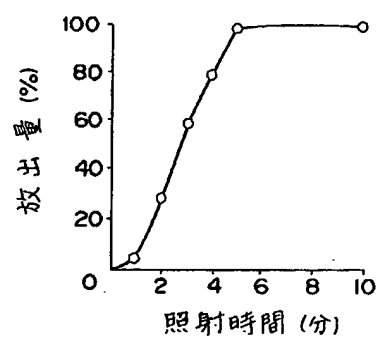
第1図B



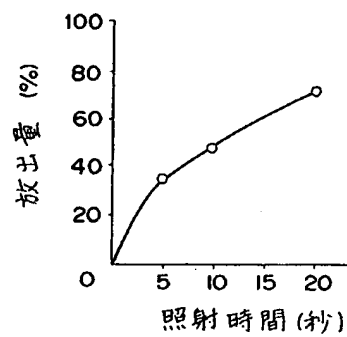
第2図 PLPCの吸収曲線



第3図
ビタミンCの放出量



第4図
DNAの放出量



手続補正書（方式）

平成 2年 9月 6日



特許庁長官殿

1. 事件の表示

平成 2年 特許願 第136530号

2. 発明の名称

光破砕性リボソーム含有皮膚化粧料

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名称 サンスター株式会社

4. 代理人

住所 〒540 大阪府大阪市中央区城見2丁目1番61号
ツイン21 B10タワー内 電話(06)949-1261

氏名 弁理士 (6214) 青 山 祐



5. 補正命令の日付

平成 2年 8月28日（発送日）

6. 補正の対象

明細書の「図面の簡単な説明」の欄および図面
（第1図）

7. 補正の内容

（イ）「図面の簡単な説明」の欄

（1）明細書第27頁下から10行、「リボソームの」と「構造」との間に「粒子」を挿入する。

（2）同書第27頁下から8行、「リボソームの」と「構造」との間に「粒子」を挿入する。

（ロ）図面

第1図を別紙と差し替える（内容に変更なし）。

以 上



方式 吉川 分寄 査